Aus den Medizinischen Universitätskliniken
Gießen Direktor: Prof. Dr. Bohnenkamp
Freiburg i. Br. Direktor: Prof. Dr. Bohnenkamp.

Spektrophotometrische Untersuchungen an Phosphatfällungen von Urinen.

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde
einer hohen medizinischen Fakultät
der Albert-Ludwigs-Universität in Freiburg i. Br.

Vorgelegt von
Ernst Ziegler
aus Kesselbach
1935.

Verlagsdruckerei Bär & Bartosch / Freiburg-Breisgau

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543125_0042

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Aus den Medizinischen Universitätskliniken
Gießen Direktor: Prof. Dr. Bohnenkamp
Freiburg i. Br. Direktor: Prof. Dr. Bohnenkamp.

Spektrophotometrische Untersuchungen an Phosphatfällungen von Urinen.

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde
einer hohen medizinischen Fakultät
der Albert-Ludwigs-Universität in Freiburg i. Br.

Vorgelegt von
Ernst Ziegler
aus Kesselbach
1935.

Verlagsdruckerei Bär & Bartosch / Freiburg-Breisgau

Dekan: Prof. Dr. Kapfhammer.

Referent: Prof. Dr. H. Bohnenkamp.

Lebenslauf.

Am 28. Dezember 1909 wurde ich als Sohn des Lehrers Ludwig Ziegler in Kesselbach geboren. Dort besuchte ich die Volksschule von Ostern 1916 bis 1919, dann als Realgymnasiast die Oberrealschule in Grünberg bis 1928. Am 9. Februar 1928 bestand ich dort die Reifeprüfung. Medizin studierte ich an den Universitäten Gießen, München und Königsberg. Im Sommer 1930 bestand ich in Gießen die medizinische Vorprüfung, das Staatsexamen ebenfalls in Gießen am 2. Dezember 1933. Seit dieser Zeit bin ich als Medizinalpraktikant und seit 3. Dezember 1934 als Volontärassistent an der medizinischen Universitätsklinik in Gießen tätig.

ERNST ZIEGLER.

Die vorliegende Arbeit wurde in Gießen ausgeführt und in Freiburg ergänzt und beendet. Sie bildet ein Glied einer größeren Untersuchungsreihe über die optischen Eigenschaften von physiologischen Flüssigkeiten, die Herr Prof. H. Bohnenkamp zusammen mit Herrn Dr. F. Bandow und mit Unterstützung der Notgemeinschaft der Deutschen Wissenschaft in Gang setzte.

Eine angenehme Pflicht ist es mir, meinem hochverehrten Lehrer auch an dieser Stelle meinen Dank auszusprechen für die Anregung zu dieser Arbeit und für das mir bewiesene Wohlwollen.

Ebenso bin ich Herrn Dr. Fritz Bandow für seine mannigfache Unterstützung zu Dank verpflichtet. Einige von ihm bei der Fortsetzung dieser Arbeiten gefundenen Ergebnisse sind im Folgenden bereits mitverwertet.

Einleitung.

Die Hauptaufgabe der Spektrophotometrie besteht darin, kleinste Mengen von Substanzen und feinste Strukturänderungen, die oft chemisch nicht mehr nachzuweisen sind, anzuzeigen. Die Schwierigkeit dieser Methode bei der Untersuchung von Körperflüssigkeiten liegt darin, daß hier viele Stoffe in den verschiedensten Mengenverhältnissen gelöst sind. Dementsprechend ist auch die Absorption der unvorbereiteten Flüssigkeiten als eine Sammelabsorption aufzufassen. Diese in Einzelabsorptionen aufzulösen ist das vorläufige Ziel.

Bei einer größeren Versuchsreihe an Urinen fiel bei einer besonderen Bearbeitung (s. S. 13) auf, daß bei der Behandlung des Phosphatniederschlages mit Salzsäure ein in Natronlauge mit starker Ultraviolettabsorption löslicher Stoff übrig blieb, der vorher dem Lösungsversuch mit Natronlauge widerstand. Diese nur bei einem Urin aufgefallene Tatsache an weiterem klinischen Material nachzuprüfen, wurde als Aufgabe für diese Dissertation gestellt.

Physikalische Methode.

Die Absorption des Lichtes erfolgt im geometrischen Verhältnis zur Schichtdicke (Lambertsches Gesetz) und bei normalen Verhältnissen auch zur Konzentration (Beersches Gesetz). Abweichungen vom Beerschen Gesetz weisen auf eine Änderung der Molekular- oder Jonenanordnung hin. Als Maß für die Absorption dient der Extinktionskoeffizient nach der Formel:

$$E = \frac{1}{d} \log \frac{Jo}{J}$$

d = Schichtdicke in cm.
Jo = Intensität des Lichtes vor seinem Eintritt in die absorbierende Flüssigkeit.
J = Die durch die Absorption verminderte Intensität des durchgelassenen Lichtes.

Der Extinktionskoeffizient, bezogen auf die Einheit der Konzentration, heißt spezifischer Extinktionskoeffizient.

Für die graphische Darstellung benutzten wir, um unabhängig von der Konzentration zu bleiben, den Logarithmus des Extinktionskoeffizienten. Man erhält auf diese Weise die typischen Farbkurven der entsprechenden Lösungen. Die verschiedene Konzentration beeinflußt nur die Höhenlage der Gesamtkurve ohne Änderung der Gestalt.

Wir wählten zur Aufzeichnung und Auswertung die photographische Methode und konnten die von Dannmeyer und anderen Autoren festgestellten Nachteile (Veränderungen der Struktur durch die Bestrahlung der Lösungen mit größeren ultravioletten Lichtmengen) bei diesen Substanzen nicht bestätigen. Wir bestrahlten wiederholt und längere Zeit unsere Lösungen mit dem vollen Licht des Wolframfunkens, und die Absorptionskurven vor und nach der Bestrahlung zeigten keine erkennbaren Unterschiede.

Zu den Aufnahmen wurde von uns ein nach Angaben von Scheibe aufgebauter Apparat mit folgender Anordnung benutzt:

Als Lichtquelle diente der elektrische Wolframfunken, dessen Licht mit Hilfe einer Quarzsammellinse in ein paralleles Bündel umgewandelt wurde. Die obere Hälfte leiteten wir durch ein Balyrohr mit der zu untersuchenden Flüssigkeit. Mit Hilfe dieses Rohres stellten wir bei Lupenablesung die gewollten Schichtdicken, sei es in arithmetischer oder geometrischer Reihenfolge, ein. Die untere Hälfte des Lichtbündels wurde von einem rotierenden Sektor mit einem Gesamtöffnungswinkel von 120 ° in dem Verhältnis 3 : 1 geschwächt und mittels einer Quarzscheibe ungefähr denselben Reflexionsbedingungen wie das obere unterworfen. Dieser an sich große Öffnungswinkel schien uns trotz der Gefahr etwas größerer Fehler günstig wegen der Möglichkeit, dabei mit kleineren Substanzmengen auszukommen und kürzere Belichtungszeiten anzuwenden, um die Ultraviolettbestrahlung der Lösung auf ein Mindestmaß herabzudrücken. Die beiden Strahlenbündel trafen dann auf ein Hüfnerprisma (Fa. C. Zeiß), das die Eigenschaft hat, bei guter Einstellung die beiden Strahlen dicht aneinanderzubringen mit einem schmalen, scharfen Trennungsstrich, der bei Intensitätsgleichheit verschwindet.

An unserem Quarzspektrographen (Q B von Steinheil, München) benutzten wir eine Spaltbreite von 0,1 mm. Diese genügte, um die zur Ablesung nötige Schärfe des Spektrums zu erreichen.

Die dicht aufeinanderfolgenden Emissionslinien des Wolframfunkens von ausreichender Intensität ergaben bei unserer Einstellung ein von der Wellenlänge 2275 Å bis weit ins Sichtbare auswertbares Spektrum. Ein weiterer Vorteil des Wolframs war seine geringe Abnutzung und die hierdurch bedingte Festigkeit der Einstellung.

Vor und nach jeder Serienaufnahme wurde zur Kontrolle bei Ausschaltung des Sektors eine Vergleichsaufnahme mit $^1/_2$ der Belichtungszeit durchgeführt. Zeigten sich hierbei Unterschiede in der Intensität der beiden Spektren, so mußten wir nach okularer Beobachtung auf der Fluoreszenzscheibe regulieren und dann immer wieder photographisch prüfen. Da es bei dieser Arbeit weniger auf die absolute Gestalt der Kurve als vielmehr auf den Vergleich der Lagen von Kurven ein und derselben Serie ankam, werteten wir auch einzelne Platten aus, deren Vergleichsspektren nicht vollständig gleiche Schwärzung zeigten. Bei den hier abgedruckten Kurven wurden aber nur Platten verwandt, bei denen volle Übereinstimmung in den Vergleichsspektren bestand.

Großer Wert war natürlich auch auf vollkommene Klarheit der zu photographierenden Lösungen zu legen. Durch Trübungen wurde die Gesamtlage der Kurve erheblich verschoben, wenn auch der Charakter der Kurve bei geringeren Trübungen im Verhältnis nicht sehr wesentlich beeinflußt wurde.

Chemische Methode.

Der Urin von 24 Stunden wurde gesammelt, 200 ccm davon mit 40 ccm 10%iger Natronlauge versetzt, solange ruhig stehen gelassen, bis sich der gebildete Niederschlag vollständig auf dem Boden abgesetzt hatte (Dauer 3—24 Stunden). Die klare, etwas dunkler als der Urin gefärbte Flüssigkeit wurde vorsichtig abgegossen, der Bodensatz unter dreimaligem Waschen mit destilliertem Wasser zentrifugiert. Dann versuchten wir dieses Sediment in 10 ccm 10%iger Natronlauge zu lösen. Der größere ungelöste Teil wurde durch Zentrifugieren entfernt, die klare Lösung als „1. NaOH-Lösung" photographiert. Nun versuchten wir das Sediment in 6%iger Salzsäure aufzulösen und filtrierten die klare Lösung als

„HCl-Lösung" ab. Dieses Vorgehen entspricht also ungefähr der von Garrod zur Koproporphyrinbestimmung angegebenen Urinbehandlung.

Da das Filtrierpapier aber immer noch einen wenn auch geringen Rückstand zeigte, versuchten wir diesen Rest durch mehrmaliges Übergießen in 10 ccm 10%iger Natronlauge aufzulösen: „2. NaOH-Lösung". Die stärkere Absorption dieser Lösung gegenüber der 1. NaOH-Lösung in einem Falle war der Ausgangspunkt für diese Arbeit.

Diese 2. NaOH-Lösung bereitete größere Schwierigkeiten bei der Klärung, da sie das mit Salzsäure vorbehandelte Filtrierpapier auflockerte, leicht durchlöcherte und durch Neutralisation der HCl-Lösung die gelösten Phosphate wieder ausfällte und hierdurch mehrmaliges Filtrieren notwendig machte. Es gelang dann, durch Zwischenschaltung von Waschungen des Filters mit destilliertem Wasser dieser Schwierigkeit einigermaßen aus dem Wege zu gehen. Dieses Wasser zeigte beim Photographieren nur eine abgeschwächte Absorption der HCl-Lösung.

Menge und Zusammensetzung des Niederschlages.

Die Niederschlagsmenge dürfte von dem am stärksten schwankenden Faktor, den Erdalkaliphosphaten, abhängig sein. Einen eindeutigen Zusammenhang zwischen spezifischem Gewicht und Niederschlagsmenge konnten wir nicht feststellen. Bei 50 spezifischen Gewichtsbestimmungen und Niederschlagswägungen schwankten die Niederschlagsgewichte zwischen 4 und 104 mg, berechnet auf eine Ausgangsmenge von 100 ccm Urin, und die spezifischen Gewichte zwischen 1005 und 1028. Der aus diesen Bestimmungen errechnete Korrelationskoeffizient von -0.5 mit ± 0.1 Fehlergrenze deutete nur eine gewisse Abhängigkeit dieser beiden Faktoren an. Dies ist verständlich, da noch andere Stoffe (z. B. Zucker) das spezifische Gewicht des Urins erhöhen können, aber nicht mitgefällt werden.

Chemisch besteht der Niederschlag in der Hauptsache aus Erdalkaliphosphaten. Dazu kommen noch Harnsäure und mitgerissene Farbstoffe. Die Harnsäure ist für das Absorptionsmaximum der

HCl-Lösung bei 2855 Å hauptsächlich verantwortlich zu machen.[1] Sie ist in dem gutgewaschenen Phosphatniederschlag auch chemisch nachweisbar. Bei der quantitativen Bestimmung nach der Methode von Morries fanden wir ein paar Prozent von der Gesamtharnsäure des verarbeiteten Urines.[2] Die Frage, inwieweit an diesem Absorptionsmaximum noch andere Stoffe beteiligt sind, bearbeitete in unserer Arbeitsstätte Herr H.-G. Schmidt.

Garrod schreibt Auflösung des Phosphatniederschlages in HCl-Alkohol vor. Auch wir wandten dieses Lösungsmittel zum Vergleich einige Male an (z. B. 6 % HCl). Es ergibt sich eine mehr oder weniger stark hervortretende Absorptionsbande bei etwa 3600 Å. Vergleichsversuche lehrten, daß vielleicht auch diese Bande auf die Harnsäure zurückzuführen ist: die Absorption der Harnsäure unterhalb 3000 Å ist auch in HCl-Alkohol sehr stark, stärker als bei 3600 Å, aber die von sonstigen Lösungsmitteln her bekannte selektive Bande bei etwa 2850 Å tritt zurück. Die quantitativen Verhältnisse dieses wichtigen Befundes sind noch in Untersuchung.

Unter Hinweis auf Seite 19 sei noch erwähnt, daß sich in HCl-Alkohol Blutfarbstoff auflöst; das hat praktische Bedeutung für den Fall, daß aus der Bande bei 4000 Å Harnporphyrin bestimmt werden soll.

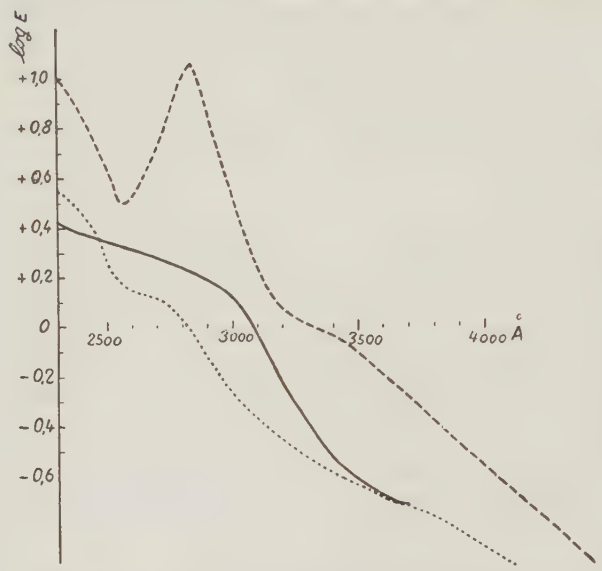
Das NaOH-Filtrat, d. h. das über dem Sediment stehende Urin-Natronlaugegemisch, absorbiert sehr stark. Die Absorption dieses Filtrates ist um ein Vielfaches höher als die des aufgelösten Niederschlages. Bei dieser Behandlung wird also nur ein geringer Teil der absorbierenden Stoffe gefällt. Das Verhältnis der Ultraviolettabsorption der HCl-Lösung zu der des Filtrates ist ungefähr 1 : 300. Deshalb war auch eine gründliche Waschung mit Wasser vor der ersten Auflösung[3] in Natronlauge notwendig, da sonst der Charakter (Auftreten des Maximums bei 2855 Å) und die Höhe dieser Kurve stark verändert wurden und diese damit nicht mehr mit der Kurve der 2. NaOH-Lösung im Sinne dieser Arbeit zu vergleichen war.

[1] Es sei auf die Arbeit von G. Huwer verwiesen, der zuletzt wieder diese Absorptionsbande im Urin mit der Absorption von Harnsäurelösungen verglich.

[2] Sehr lange dauerndes Waschen oder starke Verdünnung der HCl-Lösung und Neuausfällung setzt die Harnsäuremenge im Niederschlag herab.

[3] Waschung mit Alkohol ergab keine nennenswerte Lösung absorbierender Stoffe.

Normales Absorptionsverhalten.



Normales Absorptionsverhalten.
Ausgezogen: Abs. der 1. NaOH; gestrichelt: Abs. der HCl; punktiert: Abs. der 2. NaOH.

Bei der Verarbeitung von normalen Urinen nach der angegebenen Methode zeigten die Absorptionskurven weitgehende Ähnlichkeit.

Die Absorptionskurve der 1. NaOH-Lösung ergab bei der Wellenlänge 2400 Å meist den Wert 0,4—0,5 für log E, verlief dann ziemlich flach, d. h. mit langsam abnehmender Absorption bis etwa zur Wellenlänge 3100 Å. Von da verläuft sie dann steiler mit schnell abnehmender Absorption bis zur Wellenlänge 3700 Å, bei der unsere größtmögliche Schichtdicke bei dieser Bearbeitung mit dem Wert —0,72 für log E erreicht ist.

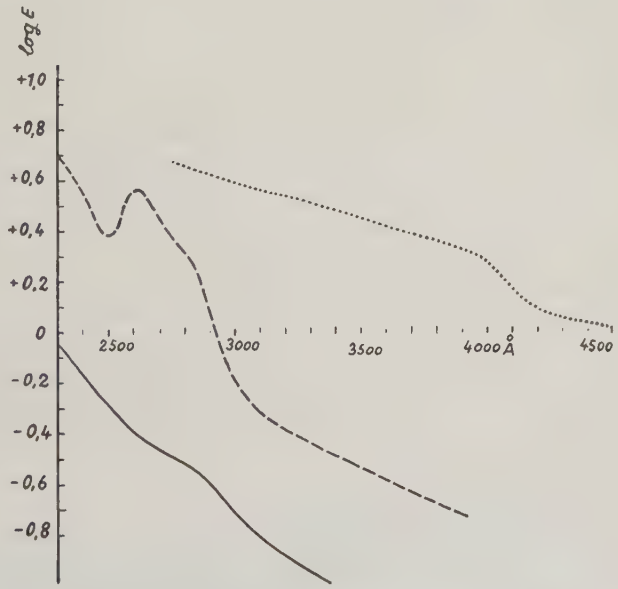
Die Absorptionskurve der HCl-Lösung erreicht bei dieser Konzentration mit ihrem Maximum bei 2855 Å den Wert 1,0 und mit ihrem Minimum bei 2600 Å 0,5 für log E. Bis zu der Wellenlänge 3100 Å nimmt die Absorption schnell ab und zeigt dann einen flacheren, fast gradlinigen Verlauf mit einer angedeuteten Stufenbildung bei 3500 Å. Bei der abgebildeten Kurve finden wir zufällig

nicht das Absorptionsmaximum des Koproporphyrins bei 4030 Å (s. Koproporphyrin S. 15).

Die Kurve der 2. NaOH-Lösung verläuft leicht gewellt, annähernd gradlinig unter der der 1. NaOH-Lösung.

Regelwidriges Verhalten der Absorptionen der beiden NaOH-Lösungen.

Da der Ausgangspunkt für diese Arbeit der Urin eines Patienten mit chronischer Nephritis war, mit einer Eiweißausscheidung von etwa 3 pro Mille, bearbeiteten wir anfangs in der Hauptsache Urine von Nierenkranken. Da dieser Weg aber zu keinem einheitlichen Ergebnis führte, gingen wir dazu über, die verschiedensten Urine nach unserer Methode zu behandeln. Dabei fanden sich nun 9 Fälle von insgesamt 60 Untersuchungen, bei denen eine verwertbare stärkere Absorption der 2. NaOH-Lösung auftrat.



Absorption der Urinbearbeitungen bei einem Kranken mit Addisonscher Krankheit.

Am auffallendsten ist dieser Absorptionsunterschied bei einem Patienten mit Addisonscher Krankheit (s. Abb.). Bei diesem ist die Absorption der 2. NaOH-Lösung 30mal so stark im Bereich der Wellenlänge 3300Å als bei der 1. NaOH-Lösung. Bei den übrigen 8 Fällen stehen die Absorptionen ungefähr in dem Verhältnis 4 : 1. 15 Fälle sind insofern unklar, als der Unterschied nur so gering ist, daß er nicht in diesem Sinne verwertbar ist. Bei den erstgenannten Fällen handelt es sich um sehr verschiedene Krankheitsbilder, wenn auch eine gewisse Häufung von Nierenerkrankungen besteht. Wir versuchten deshalb durch folgende Probe weiterzukommen:

Um festzustellen, ob vielleicht die stärkere Absorption der 2. NaOH-Lösung mit dem Eiweißgehalt in Zusammenhang stehen würde, behandelten wir von 400 ccm eines normalen Urines 200 ccm nach der üblichen Methode. Die übrigen 200 ccm mischten wir mit 100 mg Albumen ovi, das wir in 20 ccm 2%iger Natriumbikarbonatlösung aufgelöst hatten. Die hierbei auftretende hauchfeine Trübung dürfte auf schon ausfallende Phosphate zurückzuführen sein, bedingt durch die Alkaleszenz der zugesetzten Lösung. Darauf erfolgte die übliche Behandlung. Der Verlauf der Absorptionskurven zeigte aber keine verwertbaren Unterschiede. Die Absorption der 2. NaOH-Lösungen ist in beiden Fällen kleiner als die der 1. NaOH-Lösung und zeigt bei 2600 Å ein Minimum und bei 2880 Å ein Maximum angedeutet. In Übereinstimmung mit den Ergebnissen bei den Nierenkranken zeigte dieser Versuch mit künstlich zugesetztem Albumen, daß der Eiweißgehalt wahrscheinlich nicht die stärkere Absorption der 2. NaOH-Lösung bedingt.

Da Änderungen eines Verhältnisses sowohl durch den einen als auch durch den anderen Teil hervorgerufen sein können, müssen wir bemerken, daß nur in zwei Fällen die Verschiebung des Verhältnisses auf einer besonders geringen Absorption der 1. NaOH-Lösung beruht.

Im langwelligen Teil des Spektrums trat öfters eine etwas stärkere Absorption der 2. NaOH-Lösung auf.

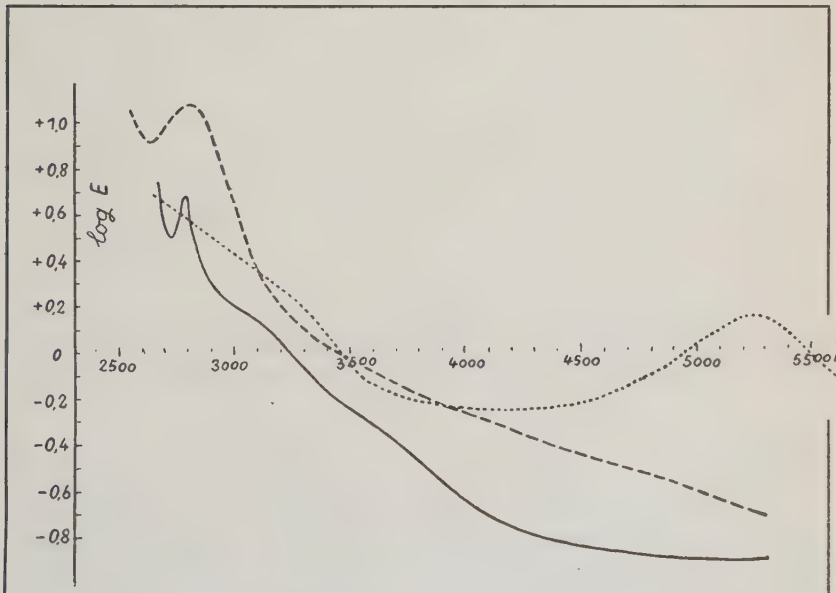
Bemerkt sei bei dieser Gelegenheit, daß wir die NaOH nicht nur für sich allein prüften, sondern auch nach Einwirkung auf Filtrierpapier, da, wie bekannt und oben (S. 10) schon erwähnt, die Natronlauge das Papier angreift. Es fand sich aber keine Absorption, die für unsere Überlegungen wesentlich ist.

Die Koproporphyrinbande bei der Wellenlänge 4030 Å.

Die Höhe der Koproporphyrinabsorption betrug vielfach ungefähr 0,2 für log E. Wir fanden aber auch Werte von 0,8 für log E. Dies würde auf die Gesamtausgangsmenge von 200 ccm Urin umgerechnet etwa 0,01 bis 0,04 mg Porphyrin entsprechen. Die letzten Werte bedeuten eine erhöhte Tagesausscheidung von Porphyrin.

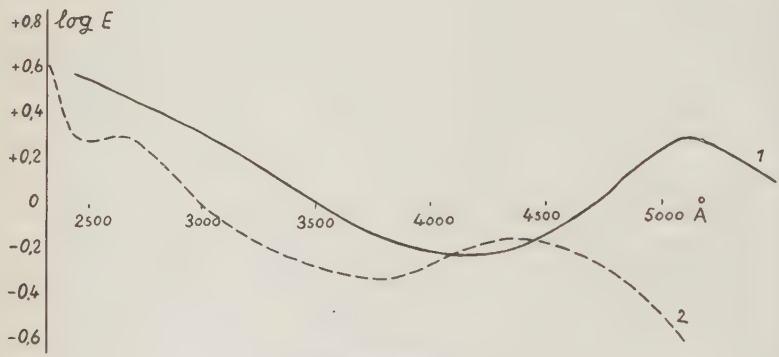
Besondere Absorptionen.

Der gesuchte Stoff, der erst nach Salzsäurezwischenbehandlung in Natronlauge löslich ist, konnte von uns bis jetzt noch nicht näher bestimmt werden. Wir fanden aber zwei Substanzen, die sich ähnlich verhielten:



Absorption der Urinbearbeitungen nach Normacolverabreichung.

1. Emodin (Trioxymethylanthrachinon) aus Cortex frangulae. Sobald dieser Körper z. B. nach Normacolverabreichung nach 2—3 Stunden im Urin auftrat, zeigte sich in dem NaOH-Niederschlag ein violetter Farbstoff, der sich in der 1. Natronlauge nicht auflöste. Durch die dann zugesetzte Salzsäure schlug zwar die Farbe in Gelb um, auch war die Salzsäure gelb gefärbt, doch zeigte sich in dem von uns bearbeiteten Spektralbereich keine auffallende Absorption der HCl-Lösung. Erst die 2. NaOH-Lösung, in der sich ein großer Teil des Stoffes mit roter Farbe löste, zeigte ein entsprechendes Absorptionsmaximum bei 5270 Å. Nach 4 Stunden war die Hauptmenge des Farbstoffes im Urin ausgeschieden.



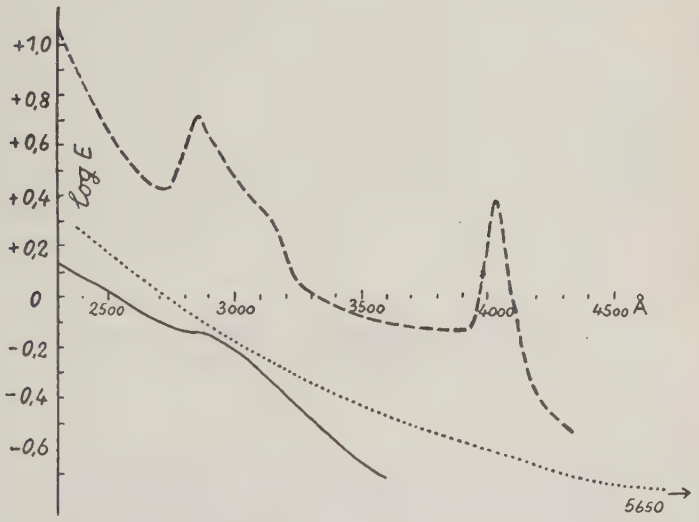
Istizinharn.

1 = Absorption des (rotgefärbten) Waschwassers; 2 = Absorption des mit Essigsäure angesäuerten (jetzt gelbgefärbten) Waschwassers.

Bei Istizindarreichung (Dioxyanthrachinon) trat im Urin ein Farbstoff auf, der bei der üblichen Behandlung mit der 10%igen Natronlauge als roter Niederschlag zu erkennen war. Diese Farbe erinnerte an das Emodin. Aber der Farbstoff löste sich (allerdings in einem Falle mit geringem Phosphatniederschlag) schon im Waschwasser im Gegensatz zu Emodin wieder auf.

Bei Essigsäurezusatz schlug die Farbe in Gelb um, zeigte also in dieser Hinsicht ein ähnliches Verhalten wie Emodin. Die beiden Kurven der neutralen und saueren Lösung zeigten, wie zu erwarten

war, im sichtbaren Teil einen etwa entgegengesetzten Verlauf. Aber auch im Ultravioletten sind Veränderungen zu beobachten. Die essigsaure Kurve zeigt zwischen den Wellenlängen 2400—2700 Å eine Stufenbildung und eine deutlich geringere Gesamtabsorption, abgesehen von einer einmaligen Überschneidung bei etwa 4300 Å, da sich an dieser Stelle ein Minimum der Wasserkurve und ein Maximum der essigsaueren Kurve befindet.

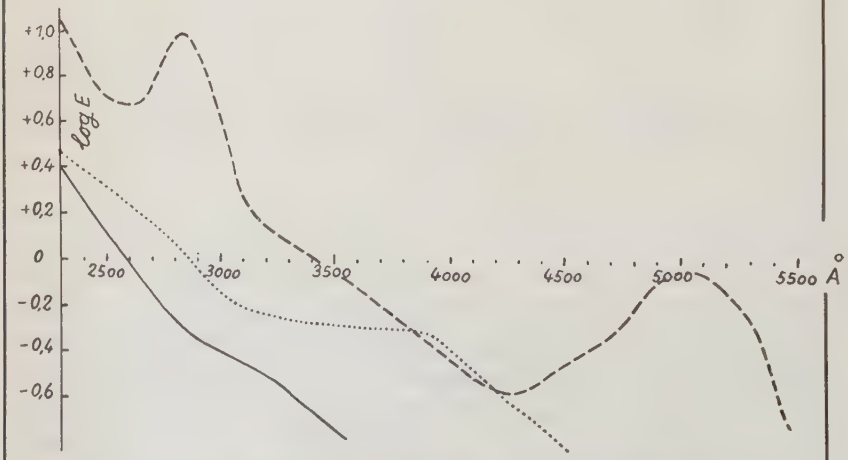


Absorption der Bearbeitungen eines ikterischen Harnes.

2. Biliverdin in ikterischen Urinen. Bei diesen Urinen lösten sich sowohl in der 1. Natronlauge als auch in der Salzsäure Teile des Farbstoffes, aber die Hauptabsorption zeigte sich wenigstens in unserem Bereiche in der 2. NaOH-Lösung. Dabei ist weniger die Stärke der Absorption als der besondere Verlauf beachtenswert. Die Kurve verläuft immer flacher, um im langwelligen Teil fast waagrecht auszulaufen, gibt also eine verhältnismäßig hohe Absorption im sichtbaren Spektrum.

Zwei weitere Fälle mit deutlichen Absorptionsbanden an besonderer Stelle möchten wir hier anführen:

Absorption der Urinbearbeitungen bei einem Kranken mit Lymphogranulom der Lunge.

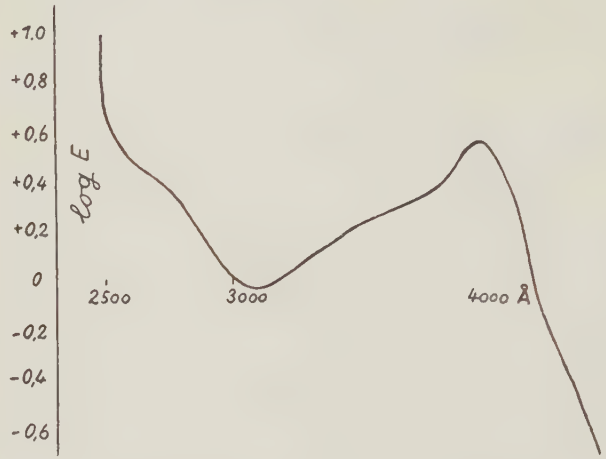


Absorption der Urinbearbeitungen bei einem Kranken mit chronisch-rezidivierender Nephritis.

Es handelt sich in dem einen Falle um eine chronisch-rezidivierende Nephritis (I) und im zweiten Fall um ein Lymphogranulom der Lunge (II). Bei beiden war im Urin Eiweiß nachzuweisen und im Sediment massenhaft Erythrozyten. Fälle mit solchem Urinbefund hatten wir auch schon früher in Bearbeitung, ohne dabei etwas besonderes gefunden zu haben. Bei dem Fall II fand sich nun bei der Absorptionsaufnahme der 2. NaOH-Lösung ein deutliches Maximum bei ungefähr 3700 Å. Bei bloßer Betrachtung hatte die NaOH-Lösung eine schmutziggelbe Farbe. Der Rest auf dem Filter war grün und löste sich in Wasser (und nicht in Eisessig, im Gegensatz zu dem diese Seite unten beschriebenen Versuch). Die Absorption bei 3700 Å ist vielleicht identisch mit der bei Fall I gefundenen Stufe bei dieser Wellenlänge. Bemerkenswerter ist aber bei Fall I ein deutliches Absorptionsmaximum bei etwa 5000 Å in der HCl-Lösung. Dieses Maximum wurde bei einer Wiederholung des Versuches bei demselben Patienten wieder gefunden, während die Stufenbildung fehlte.

Die Absorptionswirkung von Blut im Urin.

Der letzte bemerkenswerte Fall ist ein Patient mit chronischer Nephritis. Im Urin fanden sich reichlich Erythrozyten. Die HCl- und NaOH-Lösungen zeigten keine Besonderheiten, wenn auch die Absorption der 2. NaOH-Lösung deutlich stärker war als die der 1. NaOH-Lösung. Da aber auf dem Filter ein beachtlicher Restbestand nach der Spülung mit der 2. Natronlauge vorhanden war, lösten wir denselben in Eisessig auf und fanden dann außer einer leichten Stufenbildung bei 2800 Å ein ausgesprochenes Maximum bei etwa 3900 Å. Wir wiederholten darauf diesen Versuch mit Urin und künstlichem Blutzusatz, und es gelang auf diesem Wege, die besprochene Absorption in Eisessig zu erhalten. Dabei zeigte sich, daß das Haemoglobin von unserer 6%igen Salzsäure nicht aufgelöst wurde, daß also Blutanwesenheit bei einer Koproporphyrinbestimmung nach dieser Methode nicht stört.



Lösung eines Niederschlagsrestes in Eisessig
(siehe Text S. 19 unten).

Versuch einer Erklärung.

Die verschiedene Löslichkeit der Niederschlagsbestandteile in demselben Lösungsmittel vor und nach der Zwischenbehandlung könnte durch Adsorption erklärt werden. Als Beispiel möge die Harnsäure dienen. Wie erwähnt, wird auch Harnsäure bei dem Ausfallen der Phosphate mitgerissen. Beim Auswaschen des Niederschlages mit Wasser trat zwar noch eine Absorption durch Harnsäure auf. Sie war aber in dem 2. Waschwasser gegenüber der Absorption der HCl-Lösung ziemlich gering und war beim 3. Waschwasser schon bei unseren Schichtdicken überhaupt nicht mehr nachzuweisen, trotzdem sich die Harnsäure hätte lösen können. Also herrschen in dem Niederschlag andere Lösungsbedingungen als außerhalb. Erst dadurch, daß die Salzsäure die Phosphate und damit die Hauptmasse des Niederschlages auflöst, wird die Harnsäure sozusagen frei und kann in Lösung gehen. Der von uns gesuchte Körper bräuchte also nur in Salzsäure unlöslich zu sein und in Natronlauge löslich, und seine Anwesenheit nur in der 2. NaOH-Lösung wäre geklärt. Andererseits ist eine chemische Veränderung

nicht ganz auszuschließen, besonders im Hinblick auf verschiedene Farbänderungen, die wir gelegentlich während der Abschnitte der Bearbeitung beobachten konnten.

Schluß.

Wir haben in dieser Arbeit eine Reihe von Erfahrungen bei der Spektrophotometrie unter besonderer Berücksichtigung des ultravioletten Bereiches mitgeteilt. Zu abschließenden und voll befriedigenden Ergebnissen sind wir dabei nicht gelangt. Doch lehren unsere Versuche, im Zusammenhang mit den von anderen Autoren gesammelten Kenntnissen, daß durch eine systematische Fortführung dieser Untersuchungen wichtige Ergebnisse, die über die bisherigen Kenntnisse hinausführen können, zu erzielen sind, wobei optische und chemische Untersuchungen gleichzeitig angestellt werden müssen. Für praktische (klinische) Zwecke wird man wegen der größeren Einfachheit in der Ausführung dem sichtbaren Gebiete den Vorzug geben. Doch zeigen gerade unsere Versuche, daß in besonderen Fällen die Hinzunahme des ultravioletten Bereichs weiterführen kann und allein erst einen Nachweis ermöglicht.

Aus den mitgeteilten Ergebnissen ergibt sich — in Übereinstimmung mit sonstiger Erfahrung —, daß die Entfernung der Harnsäure wichtig ist, jedoch muß dies so erfolgen, daß die sonstigen biologisch wichtigen Stoffe nicht mitbeeinträchtigt werden. Solche Versuche sind in der Freiburger Klinik bereits mit Erfolg in Angriff genommen.

Zusammenfassung.

Aus verschiedenen Urinen werden durch Natronlauge die Erdalkaliphosphate mit mehreren Begleitstoffen ausgefällt. Dieser Niederschlag wird bei verschiedener Bearbeitungsweise (hauptsächlich Behandlung mit Natronlauge und Salzsäure) auf seine Absorption im ultravioletten Lichte untersucht. Es wird die selektive Absorption der Harnsäure bei 2855 Å und die Porphyrinbande bei 4030 Å gemessen und das Verhalten des Haemoglobins und einiger Anthrachinonkörper beobachtet. Ferner werden mehrfach verschiedene, teils selektive, teils verwaschene Absorptionen festgestellt, deren Zuordnung zu bestimmten Körpern noch nicht gelang.

Literaturverzeichnis.

Als zusammenfassende Werke seien hier nur zwei genannt:

Nähere Angaben über die Methodik und über die bisherigen Ergebnisse der Spektrophotometrie (nebst weiteren Literaturangaben) finden sich bei

L. Heilmeyer: Medizinische Spektrophotometrie, Jena 1933.

Eine Übersicht über die Zusammensetzung des Harns und die verschiedenen Untersuchungsmethoden gibt

E. Spaeth: Die chemische und mikroskopische Untersuchung des Harnes. V. Auflage, Leipzig 1924.

Franke und Fikentscher: Mü. Med. Wschr. 1935, Seite 171.

G. Huwer: Arch. Gynäk. 157, 524. 1934. (Dort weitere Literatur, besonders zur Harnsäurefrage.)

H.-G. Schmidt: Dissertation Gießen 1935.